In the name of Allah, the Most Gracious, the Most Merciful









FACULTÉ DE MÉDECINE D'ALGER
DEUXIÈME ANNÉE DE MÉDECINE (2015-2016)
MODULE DE BIOCHIMIE

GÉNÉRALITÉS SUR LES HORMONES

Dr AÏT ABDALLAH

I. PRINCIPES GÉNÉRAUX DE LA SIGNALISATION CELLULAIRE

Aucune cellule de l'organisme ne fonctionne de manière indépendante.

La communication entre les cellules est obligatoire dans le but de coordonner toutes les activités cellulaires (métaboliques, de différenciation, de croissance cellulaire, de synthèse et de libération ou d'adressage des protéines, composition des liquides extracellulaires et intracellulaires).

L'échange d'information est réalisé par des molécules de signalisation.

Les molécules de signalisation émises par une cellule (A) sont reconnues par une cellule (B) grâce à la présence d'une structure particulière qu'on appelle « récepteur spécifique ».

L'interaction molécule de signalisation-récepteur va déclencher une réponse de la cellule (B) à ce message.

Une molécule de signalisation peut agir sur différents types cellulaires, et plusieurs molécules de signalisation peuvent agir sur un même type cellulaire.

La réception de la molécule signal au niveau de la cellule cible fait intervenir des mécanismes qui dépendent de la nature physico-chimique de la molécule signal :

- **Les molécules de signalisation sont de nature hydrophile :** le récepteur de ces molécules de signalisation est membranaire ;
- **Les molécules de signalisation sont de nature hydrophobe (lipophile) :** ces molécules ont besoin d'un transporteur dans la circulation, elles traversent la membrane, leur récepteur est intracellulaire.

N. B.

- Les molécules de signalisation de nature ionique sont capables d'induire l'ouverture ou la fermeture de canaux ioniques qui peuvent entraîner la génération de courants transmembranaires.

La signalisation peut s'exercer à des distances variables, c'est la distance qui est à la base de la classification des molécules de signalisation :

- **transmission endocrine :** les molécules de signalisation sont appelées « hormones », elles sont libérées par des cellules endocriniennes qui peuvent être regroupées en glandes, elles sont libérées dans la circulation pour atteindre la cellule cible qui est très éloignée de la cellule émettrice ;

- **transmission paracrine :** dans ce cas, la cellule émettrice et la cellule réceptrice sont adjacentes, les molécules de signalisation risquent d'être détruites par les nombreuses molécules présentes dans la circulation ;
- **transmission autocrine :** dans ce cas, la molécule de signalisation émise par une cellule (A) est capable de se fixer après un passage dans la circulation sur la cellule elle-même.

N. B.

- Les cellules en culture répondent souvent à des facteurs de croissance qu'elles produisent.
- Les cellules tumorales produisent et libèrent une grande quantité de facteurs de croissance qui stimulent la prolifération des cellules tumorales (croissance non contrôlée) mais aussi, vont stimuler la croissance des cellules adjacentes non tumorales.
- La transmission de l'information par le système nerveux central est spécifique, la communication entre la cellule émettrice et la cellule réceptrice est réalisée par l'intermédiaire de structures spécialisées appelées « synapses ». Le nerf excité transmet l'information par l'intermédiaire d'un courant électrique le long des axones. À la terminaison de l'axone, l'information électrique est transformée en information chimique (neuromédiateur).

Les molécules de signalisation sont classées en fonction du système auquel elles appartiennent :

- les messagers intercellulaires du système immunitaire sont appelés « cytokines » ;
- les messagers intercellulaires qui provoquent la multiplication et la différenciation cellulaires sont appelés « facteurs de croissance » ;
- les messagers endocriniens sont appelés « hormones » ;
- les messagers appartenant au système nerveux central sont appelés « neuromédiateurs » ou « neurotransmetteurs ».

La réponse de la cellule cible se fait toujours par l'intérieur.

Une même cellule peut recevoir plusieurs molécules de signalisation.

À côté de la signalisation extracellulaire existe une signalisation intracellulaire. Ces deux voies sont organisées et intégrées, cette intégration correspond en six types d'ordres ou de consignes à exécuter et qui sont :

- **la prolifération ou la différenciation :** ces deux ordres opposés constituent la voie de prolifération ;
- **l'adhésion ou la migration :** ces deux ordres opposés constituent la voie de la motilité ;
- **la survie ou la mort de la cellule :** ces deux ordres opposés constituent la voie de la survie cellulaire.

II. NOTION D'HORMONE

1. Définition

Une hormone est une molécule de signalisation émise par une cellule endocrinienne et libérée dans la circulation car elle est destinée à une cellule cible éloignée par rapport à elle. La cellule cible possède un récepteur spécifique à cette hormone, c'est l'interaction hormone-récepteur qui déclenche la réponse de la cellule cible au message apporté par l'hormone.

La réponse cellulaire est contrôlée : lorsque la cellule a assuré ses besoins, la signalisation est arrêtée.

2. Caractéristiques communes des hormones

- concentration très faible (elle varie selon les hormones entre 10^{-8} M et 10^{-12} M) ;
- toutes les hormones sont libérées dans la circulation ;
- le mode et le rythme de sécrétion diffèrent selon les hormones ;
- toutes les hormones agissent par l'intermédiaire d'un récepteur spécifique ;
- réponse de la cellule cible ;
- pertes : les molécules signal libérées dans la circulation passent par le rein où elles peuvent être éliminées et passent par le foie où elles sont transformées et inactivées, donc la sécrétion doit toujours tenir compte de ces pertes pour assurer les activités cellulaires.

4. Classification des hormones

Les hormones sont classées en trois groupes :

- **les hormones dérivées d'acides aminés** : telles que les hormones thyroïdiennes, les catécholamines et les indolamines, elles proviennent de la tyrosine ou du tryptophane (acides aminés aromatiques) et sont peu solubles dans l'eau ;
- **les hormones stéroïdes :** elles ont comme précurseur le cholestérol (27 carbones), elles sont insolubles dans l'eau (elles nécessitent un transporteur dans la circulation et traversent la membrane directement). Elles sont classées en fonction de leur nombre de carbones : 21 carbones (glucocorticoïdes, minéralocorticoïdes et progestérone), 18 carbones (œstrogènes) et 19 carbones (androgènes). Chaque hormone est synthétisée par une glande endocrine particulière, la synthèse se fait toujours dans l'ordre 27C→21C→19C→18C : c'est la filiation. Les cellules endocriniennes possèdent l'équipement enzymatique qui permet d'orienter la synthèse des hormones stéroïdes en fonction du nombre de carbones ;
- **les hormones protéiques :** dans ce groupe, on trouve des hormones peptidiques, polypeptidiques et des protéines de différentes structures (rarement des protéines à plusieurs sous-unités destinées à la régulation).
  Les hormones protéiques sont codées par un gène, ce gène localisé dans l'ADN est transcrit en ARN pré-messager qui comporte les séquences des exons et des introns. Ce pré-messager se trouve dans le noyau, il va subir le phénomène de maturation qui consiste en l'excision des introns et la fixation de la coiffe (5' cap) en 5' et de la queue poly-A en 3'. Cet ARNm passe dans le cytoplasme où il subit une traduction qui fait intervenir l'ARNm, les ARNt et les ribosomes.

La synthèse protéique nécessite la présence de tous les acides aminés en quantités équimolaires.
La protéine hormonale synthétisée n'est pas l'hormone définitive, c'est un précurseur d'hormone, elle est beaucoup plus grande que la protéine hormonale définitive, elle va subir un phénomène de maturation et d'adressage.

4. Régulation de la sécrétion hormonale

C'est un moyen d'ajustement continuel de la réponse de la cellule cible aux hormones par rapport aux besoins cellulaires. Il se fait au niveau :

- de l'axe de biosynthèse ;
- du stockage ;
- de la sécrétion ;
- supérieur du système nerveux central (l'hypothalamus) : le système nerveux central est influencé par des stimuli externes, et c'est cette régulation qui fait que les hormones sont sécrétées à des taux variables en réponse aux différents besoins de la cellule, en réponse aux variations physiologiques mais aussi aux variations pathologiques.

III. NOTION DE TRANSPORTEUR

Les hormones sont libérées dans la circulation pour atteindre leur cellule cible qui est éloignée de la cellule émettrice de l'hormone. Le transport va être conditionné par la solubilité de l'hormone :

- les hormones hydrosolubles sont véhiculées directement vers leur cellule cible (à l'exception de certaines hormones protéiques telle que la GH) ;
- les hormones liposolubles (dérivées d'acides aminés ou stéroïdes) auront besoin d'un véhicule pour les emmener vers leur cellule cible, c'est ce qu'on appelle « transporteur » (de nature protéique et soluble dans l'eau).

1. Caractéristiques communes des transporteurs

Le transporteur possède trois caractéristiques :

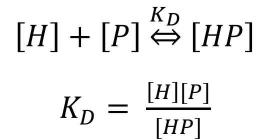
- c'est une protéine ;
- sa concentration est variable ;
- il est de faible poids moléculaire.

2. Classification des transporteurs

Il existe deux types de transporteurs :

- **peu spécifiques :** capables d'assurer le transport d'une grande variété de molécules. l'interaction ou la liaison présente une faible affinité. ils possèdent un grand nombre de sites de liaison de faible affinité. la molécule la plus concentrée occupera les sites de liaison ;
- **spécifiques :** possèdent un petit nombre de sites de liaison de grande affinité. ils fixent spécifiquement une hormone ou un groupe d'hormones apparentées.

3. Complexe hormone-transporteur



$$[H] + [P] \overset{K_D}{\Leftrightarrow} [HP]$$

$$K_D = \frac{[H][P]}{[HP]}$$

La constante de dissociation K_D est la concentration de l'hormone pour laquelle la moitié des sites de liaison du transporteur sont occupés. C'est un moyen de mesure de l'affinité du récepteur pour son hormone.

Cette relation existe dans la circulation.

C'est l'hormone libre qui va agir sur la cellule (la concentration de l'hormone libre est très faible), elle s'insère entre les milieux protéiques (entre P et HP) pour sa progression dans la circulation.

Le complexe HP possède deux fonctions :

- c'est un réservoir d'hormone libre ;
- il protège l'hormone de l'élimination rénale et de la transformation hépatique (pertes).

IV. NOTION DE RÉCEPTEUR

Lorsque l'hormone atteint la cellule cible, la cellule cible possède une structure particulière de reconnaissance spécifique de cette hormone qu'on appelle « récepteur ».

La cellule cible doit répondre ultérieurement au message apporté par l'hormone libre, cette réponse se fait toujours par l'intérieur de la cellule cible (le message doit arriver à l'intérieur de la cellule cible).

L'hormone se lie obligatoirement à une structure protéique spécifique appelée « récepteur ».

Ce récepteur possède deux fonctions :

- reconnaissance et liaison de l'hormone avec une grande affinité ;
- transformation de l'interaction hormone-récepteur en un signal qui déclenche l'organisation de la réponse cellulaire.

1. Classification des récepteurs

Les récepteurs sont classés en deux groupes selon la nature physico-chimique de l'hormone :

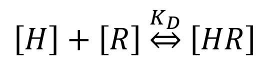
- **récepteurs membranaires ou de surface :** ces récepteurs sont localisés à l'intérieur des membranes. ils présentent un domaine extracellulaire, un domaine transmembranaire et un domaine intracellulaire. les hormones qui se lient à ces récepteurs sont des hormones hydrophiles (incapables de traverser les membranes lipidiques), donc ce sont les hormones protéiques (l'information apportée par l'hormone doit atteindre l'intérieur de la cellule, la cellule utilise des relais pour transmettre cette information, c'est ce qu'on appelle « mécanisme de transduction » : c'est le transfert de l'information de l'extérieur de la cellule vers l'intérieur de la cellule) ;
- **récepteurs intracellulaires :** ces récepteurs interagissent avec les hormones lipophiles (les hormones capables de traverser les membranes).

2. Complexe hormone-récepteur

L'hormone se lie spécifiquement à son récepteur pour former le complexe HR.

Le récepteur se lie spécifiquement à son hormone avec une grande affinité.

On définit la constante de dissociation K_D comme étant la concentration de l'hormone pour laquelle la moitié des sites du récepteur sont occupés.



$$[H] + [R] \overset{K_D}{\Leftrightarrow} [HR]$$

$$K_D = \frac{[H][P]}{[HR]}$$

Le degré de la réponse cellulaire est proportionnel à la quantité d'hormone qui forme le complexe HR (la quantité du complexe HR).

3. Caractéristiques communes des récepteurs

- propriété qui résulte de l'interaction hormone-récepteur (haute affinité, spécificité et nombre limité de sites de liaison ou saturation) ;
- amplification du message ;
- devenir du complexe HR : l'hormone ayant interagi avec le récepteur est inactivée, par contre, la destinée du récepteur va varier en fonction des besoins de la cellule :
  - le récepteur est recyclé pour assurer une nouvelle interaction avec l'hormone,
  - le récepteur subit une modification structurale qui l'empêche d'interagir avec l'hormone,
  - le récepteur subit une internalisation.

N. B.

- Des analogues synthétiques d'hormones naturelles sont largement utilisés comme médicaments. Ils se répartissent en deux groupes :
  - **Les agonistes :** se lient au niveau des sites récepteurs de l'hormone naturelle et induisent une réponse similaire ;
  - **Les antagonistes :** se lient au niveau du récepteur mais n'induisent pas de réponse de la cellule (blocage de la réponse en se fixant soit sur le site d'action de l'hormone (compétitif) ou soit au niveau d'un site différent (non compétitif)).
- La majorité des récepteurs sont activés par des molécules de signalisation telles que les hormones, les neurotransmetteurs, les facteurs de croissances et les cytokines. Certains récepteurs sont activés par des changements de concentration d'un métabolite (O_2, NO, etc.) ou par des changements ou stimuli physiques (lumière, chaleur, toucher, odorat, etc.).

V. RÉPONSE CELLULAIRE

La réponse cellulaire se fait grâce à la détection du signal hormonal par son récepteur spécifique et son activation (complexe HR). Cette activation déclenche un ou plusieurs mécanismes de transduction, des changements spécifiques dans la cellule cible et l'élimination du signal qui met fin à la réponse cellulaire.

Schématiquement, la réponse cellulaire peut être classée en deux types :

- changement dans l'activité ou la fonction de protéines spécifiques ;
- changement dans la quantité de protéines spécifiques.

La réponse cellulaire dépend de la nature physico-chimique de l'hormone.

1. Cas des hormones lipophiles

Toutes les hormones lipophiles possèdent un récepteur intracellulaire principalement nucléaire.

Le résultat de l'interaction hormone-récepteur est la transcription de gènes spécifiques.

Les récepteurs nucléaires sont classés en trois groupes :

- **NR3 (Nuclear Receptor 3) :** regroupent les récepteurs des hormones stéroïdes (ERα et ERβ pour les œstrogènes, PR pour la progestérone, MR pour les minéralocorticoïdes, GR pour les glucocorticoïdes et AR pour les androgènes) ;
- **NR1 (Nuclear Receptor 1) :** regroupent les récepteurs des hormones thyroïdiennes (TRα et TRβ), de la vitamine D (VDR) et de l'acide rétinoïque (RAR) qui est un dérivé de la vitamine A ;
- **NR2 (Nuclear Receptor 2) :** regroupent les récepteurs accessoires de l'acide rétinoïque.

Chaque groupe de récepteurs contient des récepteurs apparentés dont le ligand qui s'y fixe n'est pas encore connu (ERRα (**E**strogen-**R**elated **R**eceptor **Alpha**) et ERRβ (**E**strogen-**R**elated **R**eceptor **Beta**) pour les œstrogènes).

Les récepteurs les plus étudiés et les mieux connus sont les NR3. Cependant, tous les récepteurs nucléaires possèdent un domaine N-terminal responsable de l'activation de la transcription, un domaine central responsable de la liaison à l'ADN et un domaine C-terminal responsable de la fixation du ligand (l'hormone).

Les récepteurs des hormones stéroïdes comportent quatre domaines qui sont appelés : domaine AB (N-terminal), domaine E (C-terminal), domaine C et un petit domaine D. Chacun de ces domaines possède des fonctions particulières, mais en absence de l'hormone, le récepteur est intracellulaire (cytoplasmique), la présence de l'hormone et son interaction déclenchent la translocation du complexe HR dans le noyau.

En absence d'hormone, le récepteur est associé dans le cytoplasme à des molécules particulières qu'on appelle « protéines Hsp90 (**H**eat **S**hock **P**roteins **90**) ».

Les Hsp90 entourent le domaine E du récepteur qui représente le domaine de liaison de l'hormone. Plusieurs molécules de Hsp90 entourent le domaine E du récepteur et forment un complexe hétéro-oligomèrique.

Les Hsp90 possèdent deux fonctions :

- elles protègent le récepteur contre la dégradation protéique ;
- elles maintiennent le récepteur dans un état inactif (domaine C maintenu rigide).

La seule présence de l'hormone provoque le retrait des Hsp90, la dimérisation des récepteurs, le changement ou la modification de la conformation du dimère de récepteur dans laquelle le domaine C présente une courbure, ceci va provoquer la translocation du complexe HR, la translocation se fait grâce au domaine D du récepteur.

Le domaine D possède deux fonctions :

- c'est grâce à lui qu'il y a dimérisation des récepteurs (homodimère) une fois qu'ils aient fixé l'hormone et que le domaine C ait subi un repliement ;
- c'est grâce à lui que la translocation du récepteur est réalisée.

Le passage dans le noyau dépend de la reconnaissance de séquences spécifiques qu'on appelle « NLSs (**N**uclear **L**ocalization **S**equences) » par des protéines spécifiques qui sont « les karyophérines ». L'interaction karyophérine-NLS permet l'entrée du récepteur activé dans le noyau.

Le domaine C DBD (**D**NA-**B**inding **D**omain) possède une structure caractéristique formée de deux régions dans lesquelles neuf résidus de cystéine établissent des liaisons de coordination avec un atome de zinc. Ces structures caractéristiques sont appelées « Zinc Fingers », elles sont caractéristiques des facteurs de transcription. Ces régions se lient à des séquences spécifiques d'ADN qu'on appelle « HREs (**H**ormone **R**esponse **E**lements) ». Les HREs possèdent des séquences particulières, ces séquences sont appelées « séquences consensus ».

N. B.

- Les séquences consensus des hormones stéroïdes sont des répétitions inverses qu'on appelle « palindromes » (se lient dans les deux sens). Les deux séquences formées de six bases chacune sont séparées par trois bases.
- Les séquences consensus des NR1 sont des séquences répétées séparées par quatre bases.
- Les NR1 sont localisés dans le noyau en absence ou en présence de l'hormone. La transcription des gènes, lorsqu'il s'agit de ces récepteurs, dépend du compactage de la chromatine : une désacétylation des histones entraîne le compactage de la chromatine, la transcription ne peut se faire, inversement, l'acétylation des histones permet le relâchement de la chromatine, donc l'exposition des gènes et la transcription peut se faire.
- Les NRs peuvent exercer des fonctions indépendantes de leur fonction de facteurs de transcription, ces fonctions ont lieu dans le cytoplasme, elles s'exercent sur les voies de signalisation impliquées dans la prolifération cellulaire ou la libération de Ca^{2+} dans le cytosol.

Les récepteurs nucléaires sont la cible de nombreux médicaments, ces médicaments peuvent être de nature agoniste ou antagoniste et sont à visée métabolique ou endocrinienne.

Il existe deux grands types de cancers hormono-dépendants, ce sont les cancers du sein et de la prostate.

Les récepteurs des œstrogènes (ERs) et les récepteurs des androgènes (ARs) sont importants en oncologie et en cancérologie car leurs altérations ou modifications peuvent être reliées à la genèse et à la progression ou à l'évolution des cancers. Ils vont être des cibles thérapeutiques.

● **Cas des ERs :** l'action des œstrogènes sur la croissance du cancer du sein et de l'endomètre est connue depuis longtemps. Les œstrogènes favorisent la prolifération des tissus qui synthétisent et expriment le ERα (70% des cancers du sein expriment en excès le ERα). Le deuxième récepteur ERβ est un régulateur négatif du ERα dans les tissus mammaires normaux, en régulant l'activité transcriptionnelle du ERα par formation d'un hétérodimère d'une part, et en diminuant voire même annulant le taux de transcription.

Deux grands groupes de médicaments sont utilisés dans le cancer du sein :

- **le groupe des SERMs (Selective Estrogen Receptor Modulators) :** dans cette famille, on trouve le Tamoxifène et ses dérivés, ce sont des anti-œstrogènes. Après liaison au récepteur, ils empêchent un certain nombre de ses effets (pas tous les effets) ;
- **le groupe des SERDs (Selective Estrogen Receptor Down-Regulators ou Degradators) :** ils se lient au ERα avec une affinité comparable aux œstrogènes sans réponse cellulaire, donc, il n'y aura pas d'expression du récepteur (agissent sur les récepteurs en les dégradant).

● **Cas des ARs :** de la même façon, le AR est exprimé anormalement ou fortement dans les tissus prostatiques cancéreux. Les cancers de la prostate sont donc sensibles à une hormonothérapie, c'est ce qu'on appelle « castration » : on utilise des composés anti-androgéniques qui prennent la place de l'hormone naturelle (la testostérone).

2. Cas des hormones protéiques

Les hormones protéiques se fixent sur un récepteur membranaire capable de les reconnaître à l'extérieur de la cellule. Ces récepteurs vont intervenir dans le transfert de l'information de l'extérieur de la cellule vers l'intérieur de la cellule, ce transfert est appelé « mécanisme de transduction ».

Quel que soit le mécanisme de transduction, le récepteur membranaire est formé de trois parties : un domaine N-terminal responsable de la liaison de l'hormone à l'extérieur, un domaine transmembranaire intervenant dans le transfert de l'information et un domaine intracellulaire C-terminal intervenant dans la régulation du récepteur.

Schématiquement, il existe deux mécanismes de transduction :

- les récepteurs couplés à une enzyme (effecteur) par l'intermédiaire des protéines G (RCPG, GPCRs ou récepteurs 7TMB) ;
- les récepteurs qui portent une activité enzymatique dans leur domaine cytosolique ou récepteurs-enzymes.

a. Récepteurs couplés aux protéines G (RCPG)

Le fonctionnement de ces récepteurs membranaires entraîne l'activation des protéines G, qui à leur tour activent des effecteurs (enzymes), qui produisent des seconds messagers (signal résultant du mécanisme de transduction), qui eux vont exercer des fonctions diverses qui constituent la réponse cellulaire.

Ils interviennent dans les réponses cellulaires aux hormones et aux neurotransmetteurs dans les processus hormonaux, les processus de la vision, de l'olfaction, du goût, du toucher, de la croissance cellulaire et de l'entrée cellulaire de certains virus et bactéries.

Le RCPG est formé de sept domaines transmembranaires (une chaîne qui traverse sept fois la membrane, d'où l'appellation « récepteur 7TMB»). Il existe trois boucles extracellulaires (E1, E2 et E3) et trois boucles intracellulaires (C1, C2 et C3) (la boucle C4 – extrémité COOH - intervient dans la régulation du récepteur).

À l'heure actuelle, plus de 850 RCPG sont connus.

Les RCPG sont classés en cinq familles en fonction du ligand et du type de liaison qui est établie avec ce ligand. La majorité des hormones appartiennent à deux familles :

- la famille de la rhodopsine ;
- la famille de la sécrétine.

Quel que soit le ligand, la liaison ligand (hormone)-récepteur entraîne un changement de conformation du récepteur activé qui est à l'origine du message transmis.

Les protéines G sont formées de trois chaînes polypeptidiques différentes α, β et γ (hétérotrimères), les sous-unités β et γ sont étroitement liées.

À l'état de repos (en absence d'hormone), le récepteur et les protéines G n'ont aucune interaction, la sous-unité α est liée à βγ, elle porte un nucléotide guanylique qui est le GDP.

Les protéines G sont insérées dans la membrane grâce à des substituts lipidiques localisés au niveau des sous-unités α (myristoyl ou palmitoyl au niveau N-terminal) et γ (farnésyl ou géranylgéranyl au niveau C-terminal).

Lorsque l'hormone se fixe sur le récepteur, il y a changement de conformation du récepteur. Ce changement de conformation permet la reconnaissance de la sous-unité α de la protéine G.

La fixation de α-GDP-βγ entraîne la dissociation des sous-unités βγ et le remplacement au niveau de la sous-unité α du GDP par le GTP. La sous-unité α-GTP se dissocie du récepteur.

L'échange GTP-GDP est réalisé grâce à un groupe de protéines qu'on appelle « GEFs (**G**uanine Nucleotide **E**xchange **F**actors) ».

α-GTP qui s'est dissociée du récepteur activé transmet l'information à l'effecteur (l'enzyme), elle interagit avec l'effecteur qui devient actif.

L'interaction α-GTP-enzyme entraîne l'activation de l'enzyme et le détachement de la α-GTP qui va subir une hydrolyse enzymatique de telle sorte que GTP soit transformé en GDP, de manière à être recyclée pour former α-GDP-βγ pour recevoir d'autres messages hormonaux.

L'hydrolyse du GTP au niveau de la sous-unité α est réalisée par des protéines enzymatiques spécifiques qu'on appelle « GAPs (**G**TPase-**A**ctivating **P**roteins) ».

L'effecteur est toujours enzymatique, qui est soit l'adényl cyclase (AC) ou soit la phospholipase C (PLC).

i. Voie de l'adényl cyclase (AC)

C'est l'effecteur enzymatique le plus répandu des hormones dont le récepteur est membranaire.

C'est une enzyme membranaire formée de deux domaines : un domaine membranaire et un domaine C intracellulaire.

L'interaction α-GTP-AC aboutit à l'activation de l'enzyme, cette activation lui permet de transformer l'ATP en AMP cyclique (AMPc).

Le domaine C possède un site de liaison pour l'ATP et un site actif de l'enzyme responsable de l'activité catalytique (transformation de l'ATP en AMPc).

Il y a augmentation de la concentration intracellulaire de l'AMPc qui constitue le signal pour la cellule de répondre au signal hormonal. C'est la raison pour laquelle l'AMPc est appelé « second messager » (l'hormone étant le premier messager).

L'augmentation de l'AMPc va agir sur un groupe d'enzymes qu'on appelle « PKA (**P**roteins **K**inases **A**) » car leur activité est dépendante de l'AMPc.

La fixation de l'AMPc au niveau des PKA est coopérative, cette coopération permet un résultat rapide et ample.

Les PKA activées vont phosphoryler des protéines cytosoliques spécifiques, cette phosphorylation représente la réponse de la cellule cible au message apporté par l'hormone.

C'est la même PKA qui existe dans toutes les cellules, mais la réponse cellulaire aux protéines cibles qui seront phosphorylées dans chaque type cellulaire est différente. C'est la raison pour laquelle la réponse cellulaire aux différentes hormones est spécifique à chaque hormone.

N. B.

- Dans certains types cellulaires, l'augmentation de l'AMPc peut entraîner une réponse qui est nécessaire pour une partie de la cellule, pour les autres parties, cette augmentation de l'AMPc est indésirable et peut entraîner des dommages pour la cellule.

Il existe une famille de protéines qui ordonne à la PKA d'agir uniquement dans des compartiments subcellulaires spécifiques, ces protéines sont appelées « AKAPs (**A**-**K**inase **A**nchor **P**roteins) ». Ce sont des protéines associées aux PKA, elles délimitent les zones de la cellule où la réponse cellulaire doit se faire.

Les AKAPs possèdent deux domaines : un domaine qui assure la localisation subcellulaire et un domaine qui permet la liaison à la PKA.

Une partie de l'arrêt de la réponse cellulaire se fera par la déphosphorylation des protéines cibles et par la transformation de l'AMPc en AMP.

ii. Voie de la phospholipase C (PLC)

Dans ce cas, le second messager est l'augmentation du Ca^{2+} cytosolique.

Les concentrations du Ca^{2+} extracellulaire et intracellulaire forment un gradient de concentration, elles sont respectivement de 10^{-3} M et de 10^{-7} M.

Ce gradient de concentration est maintenu grâce à des pompes Ca^{2+}-ATPases qui utilisent l'énergie résultant de l'hydrolyse de l'ATP pour chasser le Ca^{2+} de l'intérieur vers l'extérieur (contre le gradient de concentration).

À l'intérieur des cellules existent des compartiments spécialisés qu'on appelle « calciosomes », dans lesquels la concentration du Ca^{2+} est de 10^{-3} M. À la surface du calciosome existe des pompes calcium spécifiques qui pompent le Ca^{2+} intracellulaire vers le calciosome.

Les variations de concentration du Ca^{2+} cytoplasmique vont dépendre directement de sa libération de ces compartiments.

Les PLC sont des enzymes membranaires qui possèdent un domaine PH (**P**leckstrin **H**omology) qui leur permet de reconnaître des lipides membranaires particuliers qu'on appelle « phosphoinositides ».

Il existe deux types de PLC : la PLCβ qui est activée par les RCPG et la PLCγ qui est activée par les récepteurs à activité tyrosine kinase (RTKs) (exemple de l'insuline).

Les phosphoinositides proviennent du phosphatidylinositol (l'inositol possède de nombreux groupements hydroxyles dans des positions différentes qui peuvent être phosphorylés de manière réversible par des kinases et déphosphorylés par des phosphorylases).

À chaque phosphorylation dans des positions différentes correspondent des phosphoinositides particuliers liés à la membrane.

Les PLCβ agissent sur le phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate (PIP_2), elles le coupent en deux composés qui sont : l'inositol triphosphate (IP_3) et le diacylglycérol (DAG). Ces deux composés n'ont pas la même nature physico-chimique : l'IP_3 est hydrosoluble, il diffuse dans le compartiment intracellulaire, le DAG est liposoluble, il reste dans la membrane.

L' IP_3 se fixe sur des récepteurs présents au niveau du calciosome. Ces récepteurs sont des récepteurs spécifiques qu'on appelle « récepteur-canal calcique ».

L'interaction IP_3-récepteur déclenche la sortie du Ca^{2+} du calciosome vers le cytoplasme, il y a augmentation du Ca^{2+} cytosolique (second messager).

L'augmentation de la concentration du Ca^{2+} cytosolique provoque la liaison de ce Ca^{2+} à un groupe de protéines particulières qu'on appelle « calciprotéines ».

Les calciprotéines sont classées en deux groupes :

- calciprotéines dont la présence de Ca^{2+} modifie la conformation de la protéine, telles que la calmoduline (CaM) et la troponine C (TnC) ;
- calciprotéines dont la présence de Ca^{2+} permet la liaison aux membranes.

La plupart des RCPG ont la calmoduline comme calciprotéine.

La fixation du Ca^{2+} sur la calmoduline entraîne l'activation d'un groupe d'enzymes qu'on appelle « protéines kinases Ca^{2+}/calmoduline-dépendantes ou CaM kinases». Ces enzymes vont phosphoryler des protéines cytosoliques cibles, ce qui constitue une partie de la réponse cellulaire à l'hormone.

Le DAG est liposoluble, il reste dans la membrane. Son action va s'exercer sur la PKC (protéine kinase calcium-dépendante).

La PKC à l'état basal (en absence d'hormone) se trouve dans le cytosol, elle est inactive.

Lorsque le récepteur est activé et que l'IP_3 s'est fixé sur les récepteurs du calciosome, l'augmentation du Ca^{2+} cytosolique active la PKC, qui migre vers la membrane et agit sur le DAG, ce qui permet la phosphorylation d'autres protéines cytosoliques. Cette phosphorylation constitue la deuxième partie de la réponse cellulaire.

L'ensemble des deux parties constitue la réponse cellulaire au message apporté par l'hormone.

N. B.

- L'action de l'IP_3 est très brève, elle dure quelques secondes.
- Un phosphore spécifique de l'IP_3 est hydrolysé, le résultat est la formation de l'inositol-1,4-bisphosphate qui est incapable de se fixer sur les récepteurs du calciosome, donc de provoquer la sortie du Ca^{2+}.
- On connaît actuellement 40 sous-unités α différentes, 5 sous-unités β différentes et 10 sous-unités γ différentes. L'analyse des séquences d'acides aminés des différentes sous-unités α a montré qu'il y a 90% d'analogie de séquences (conservées) et 10% de séquences variables. Les séquences conservées correspondent aux propriétés communes à toutes les sous-unités α (interaction avec les sous-unités β et γ, capacité de lier soit le GTP ou soit le GDP et l'activité GTPasique) et les séquences variables sont spécifiques à chaque sous-unité, elles interviennent dans la reconnaissance du récepteur activé et dans l'interaction avec l'effecteur enzymatique.
- D'une manière générale, les protéines G sont classées en fonction de leur sous-unité α. Cette classification est basée sur la réponse de l'effecteur enzymatique :
  - **protéines G_s :** ont pour sous-unité la α_s. La réponse de l'interaction avec l'effecteur enzymatique AC est la stimulation de l'activité de cet effecteur. Leurs récepteurs sont appelés « β-adrénergiques » ;
  - **protéines G_i :** ont pour sous-unité la α_i. La réponse de l'interaction avec l'effecteur enzymatique AC est l'inhibition de cet effecteur. Leurs récepteurs sont appelés « α_2-adrénergiques » ;
  - **protéines G_q :** ont pour sous-unité la α_q. La réponse de l'interaction avec l'effecteur enzymatique PLC est la stimulation de l'activité de cet effecteur. Leurs récepteurs sont appelés « α_1-adrénergiques ».

iii. Régulation des RCPG

Cette régulation est appelée « mécanisme de désensibilisation ». Ce mécanisme fait intervenir la phosphorylation du récepteur dans sa région cytosolique (extrémité COOH) soit par des PKA ou soit par des PKC. On trouve :

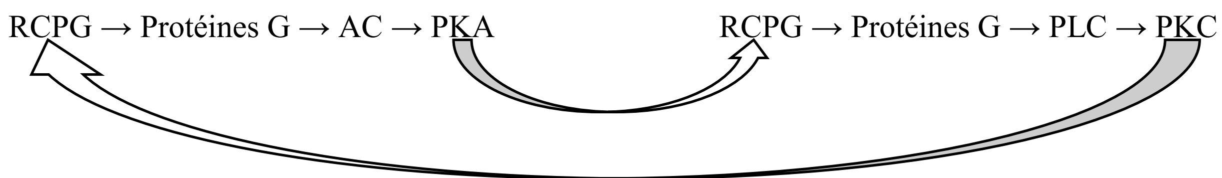
- **désensibilisation homologue ou propre :** la phosphorylation est réalisée par le produit résultant de l'effecteur enzymatique (la PKA pour l'AC et la PKC pour la PLC phosphorylent le récepteur dans le cytosol). Cette phosphorylation aboutit à une modification de conformation, le récepteur est incapable de fixer l'hormone ;



RCPG → Protéines G → AC → PKA RCPG → Protéines G → PLC → PKC

- **désensibilisation hétérologue ou croisée :** il y a interconnexion croisée entre les deux protéines kinases ;

RCPG → Protéines G → AC → PKA RCPG → Protéines G → PLC → PKC



- **désensibilisation spécifique par la βARK :** Elle est uniquement utilisée par les récepteurs β-adrénergiques en supplément par rapport aux deux autres. Les récepteurs β-adrénergiques sont présents en majorité dans toutes les cellules (cette voie de régulation est un mécanisme supplémentaire de protection). Ce mécanisme qu'on appelle « βARK (**β-A**drenergic **R**eceptor **K**inase) » consiste en la phosphorylation du récepteur à des sites différents des autres. Cette phosphorylation permet la fixation sur le récepteur d'une molécule qu'on appelle « arrestine », qui est une molécule inhibitrice du récepteur. La fixation de la β-arrestine sur le récepteur conduit à l'endocytose (internalisation) du récepteur.

b. Récepteurs à activité enzymatique ou récepteurs-enzymes

La caractéristique de ces récepteurs est de prendre en charge le message apporté par l'hormone, donc ces récepteurs vont assurer le mécanisme de transduction par l'intermédiaire de l'activité enzymatique portée par le récepteur.

D'une manière générale, ces récepteurs sont classés en familles en fonction de l'activité enzymatique qu'ils portent :

- récepteurs à activité tyrosine kinase (RTKs), c'est la famille la plus importante ;
- récepteurs à activité sérine/thréonine kinase (RSTKs) ;
- récepteurs couplés à une activité kinase cytosolique (JAK-STAT).

i. Récepteurs à activité tyrosine kinase (RTKs)

Dans cette famille, on trouve les récepteurs de l'insuline, des IGFl et IGF2 (**I**nsulin-like **G**rowth **F**actors) et des hormones protéiques. On trouve aussi les récepteurs des facteurs de croissance (polypeptides qui transmettent des signes mitotiques ou mitogènes, c'est-à-dire, capables de déclencher une mitose). Parmi ces facteurs de croissance, on trouve : EGF ou HER (**E**pidermal

Growth **F**actor ou **H**uman **E**pidermal Growth Factor **R**eceptor), PDGF (**P**latelet **D**erived **G**rowth **F**actor), FGF (**F**ibroblast **G**rowth **F**actor), NGF (**N**erve **G**rowth **F**actor) et HGF (**H**epatocyte **G**rowth **F**actor). Tous ces facteurs stimulent la prolifération des cellules.

Les RTKs présentent trois caractéristiques :

- leur structure : tous les RTKs possèdent un domaine extracellulaire qui fixe un ligand (hormone ou facteur de croissance), un domaine transmembranaire formé par l'hélice α et un domaine cytosolique qui porte deux régions : une région régulatrice responsable de l'autophosphorylation et une région catalytique qui porte l'activité tyrosine kinase ;
- le mécanisme de transduction est assuré grâce à l'activité tyrosine kinase ;
- les RTKs possèdent un niveau double d'activation, avec une réponse cytosolique métabolique et une réponse nucléaire mitotique.

La fixation du ligand (hormone ou facteur de croissance) entraîne une transconformation du domaine extracellulaire du récepteur, qui provoque l'association entre deux récepteurs voisins (dimérisation des récepteurs), qui provoque l'interaction des régions régulatrices, qui entraîne l'autophosphorylation (fixation de l'ATP sans intervention d'enzymes), l'activité tyrosine kinase est alors stimulée. L'ensemble (site PH et activité tyrosine kinase) vont s'exercer sur des molécules cytosoliques spécifiques possédant des caractéristiques structurales spécifiques. Ces molécules cytosoliques seront les molécules signal qui vont permettre l'organisation de la réponse cellulaire. Les caractéristiques structurales sont : les domaines SH (**S**rc **H**omology) qui permettent l'interaction avec des tyrosines phosphorylées, les domaines PTB (**P**hospho**t**yrosine **B**inding) qui permettent l'interaction avec les sites de liaison de l'ATP et les tyrosines phosphorylées et le motif PH qui s'associe à des lipides membranaires, ce qui entraîne l'incorporation de protéines particulières dans la membrane.

La réponse cellulaire induite par ces molécules cytosoliques est organisée par l'intermédiaire de trois voies :

- voie de la MAPK (**M**itogen-**A**ctivated **P**rotein **K**inase) ;
- voie de la PI3K (**P**hosphatidyl**i**nositol-**3**-**K**inase) ;
- voie de la PLCγ (**P**hospho**l**ipase **C**γ).

N. B.

- Le type et le degré d'activation de chacune de ces voies, donc le résultat final de la réponse cellulaire, dépend à la fois du ligand et du dimère concernés.

RTK activé

Transconformation

Dimérisation des récepteurs

Interaction des domaines cytosoliques

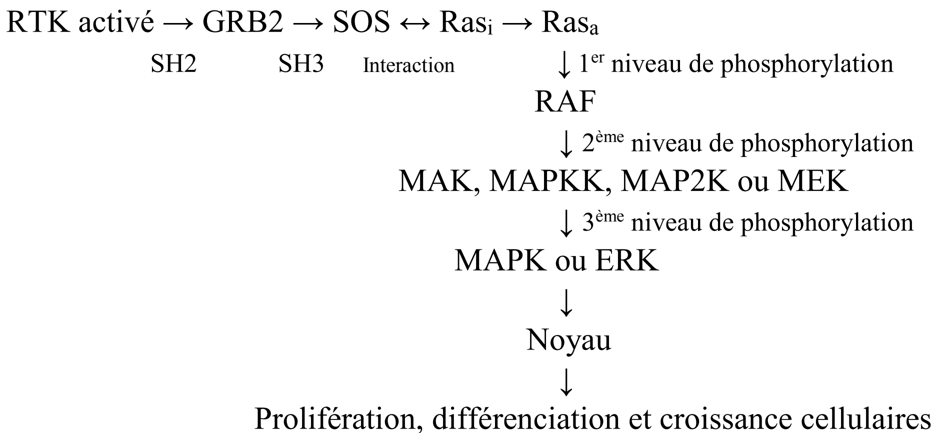
Autophosphorylation

Stimulation de l'activité tyrosine kinase

(Autophosphorylation et Stimulation de l'activité tyrosine kinase) →Phosphorylation de protéines cytosoliques à motifs particuliers (SH2, SH3, PTB et PH)

● Voie de la MAPK

Cette voie régule les fonctions de croissance et de différenciation. Elle est organisée en trois niveaux de phosphorylation qui agissent séquentiellement :



Dans cette voie, la protéine cytosolique spécifique est GRB2 (**G**rowth Factor **R**eceptor-**B**ound Protein **2**), elle interagit par son domaine SH2 avec le récepteur activé et par son domaine SH3 avec une autre protéine cytosolique spécifique qu'on appelle « SOS (**S**on **O**f **S**evenless) ». L'interaction GRB2-SOS déclenche une activité particulière de la protéine SOS qui est une activité GEF. La protéine SOS se rapproche d'une protéine cytosolique qu'on appelle « Ras (**Ra**t **S**acroma) », qui est sous forme inactive (elle fixe le GDP). L'interaction SOS-Ras provoque le remplacement du GDP par le GTP, la protéine Ras devient active.

Il existe trois protéines Ras qu'on appelle « KRAS », « HRAS » et « NRAS ».

La Ras va déclencher une cascade de phosphorylation :

- **1er niveau de phosphorylation :** elle va interagir avec une autre protéine cytosolique appelée « RAF (**R**apidly **A**ccelerated **F**ibrosarcoma) », qui existe sous deux formes : A et B (la C est mal connue) ;
- **2ème niveau de phosphorylation :** RAF va aller phosphoryler la MAK (MAPKK, MAP2K ou MEK) (**M**itogen-**A**ctivated **P**rotein **K**inase **K**inase ou **M**itogen/**E**xtracellular Signal-Regulated **K**inase) ;
- **3ème niveau de phosphorylation :** MEK va phosphoryler la MAPK ou ERK (**M**itogen-**A**ctivated **P**rotein **K**inase ou **E**xtracellular Signal-**R**egulated **K**inase).

La MAPK, une fois phosphorylée, gagne le noyau. Elle exerce deux actions :

- elle provoque la transcription d'un facteur de transcription qu'on appelle « c-Fos ». Ce facteur de transcription provoque la transcription de gènes intervenant dans le cycle cellulaire ;
- elle va phosphoryler deux facteurs de transcriptions qu'on appelle « TCF (**T**ernary **C**omplex **F**actor) » et « SRF (**S**erum **R**esponse **F**actor) ». Ces deux facteurs de transcription phosphorylés vont activer la transcription de protéines impliquées dans la prolifération cellulaire.

La Ras possède une activité GTPasique qui lui permet de retourner vers la forme inactive.

Les mutations de Ras (K, H ou N, appelées aujourd'hui « Full Ras ») sont retrouvées dans de nombreux cancers (90% du cancer du pancréas et 40% du cancer du côlon).

Les mutations retrouvées siègent au niveau de la région qui porte l'activité GTPasique, donc la Ras est incapable d'hydrolyser le GTP en GDP, elle est active perpétuellement et il y a stimulation de l'activité mitotique.

● **Voie de la PI3K**

Cette voie se fait parallèlement à la voie de la MAPK. Elle fait intervenir également des protéines cytosoliques qui reconnaissent les sites de liaison de l'ATP ou les tyrosines phosphorylées du récepteur activé.

Cette voie aboutit à la transcription de gènes impliqués dans la survie cellulaire.

La molécule cytosolique la plus importante de cette voie est la PI3K. Elle est formée de deux sous-unités : une sous-unité régulatrice (p85) et une sous-unité catalytique (p110).

RTK activé → p85 → p110 → PIP_2 → PIP_3 → PDK → PKB (AKT) → mTOR → Survie
Intercation Activation ↓
PKC

Lorsque le récepteur est activé, la sous-unité p85 qui possède un domaine SH2 interagit avec les sites de phosphorylation des tyrosines. Cette interaction déclenche l'activation de l'activité catalytique de la sous-unité p110. La p110 active interagit alors sur des lipides membranaires : le PIP_2, et le transforme en PIP_3 (Phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate). C'est le phosphore en position 3 qui est reconnu par des protéines cytosoliques spécifiques possédant un domaine PH, parmi ces protéines cytosoliques à domaine PH, on trouve en particulier la PDK (3-**P**hosphoinositide-**D**ependent **K**inase), celle-ci devient active, elle exerce son action sur la PKC et sur la PKB ou AKT. La protéine AKT va phosphoryler à son tour des protéines qui orientent la cellule vers la survie, en particulier la protéine mTOR (**M**ammalian ou **M**echanistic **T**arget **O**f **R**apamycin), dont les actions ont pour résultat l'augmentation de la synthèse protéique, la stimulation de l'angiogenèse et donc la croissance cellulaire.

La régulation de cette voie se fait grâce à une enzyme qui est une phosphatase qui hydrolyse le groupement phosphate en position 3, cette enzyme est appelée « PTEN (**P**hosphatase And **Ten**sin Homolog) » : c'est un régulateur négatif de la voie de la PI3K. Lorsqu'elle a agi, la AKT se détache de la membrane.

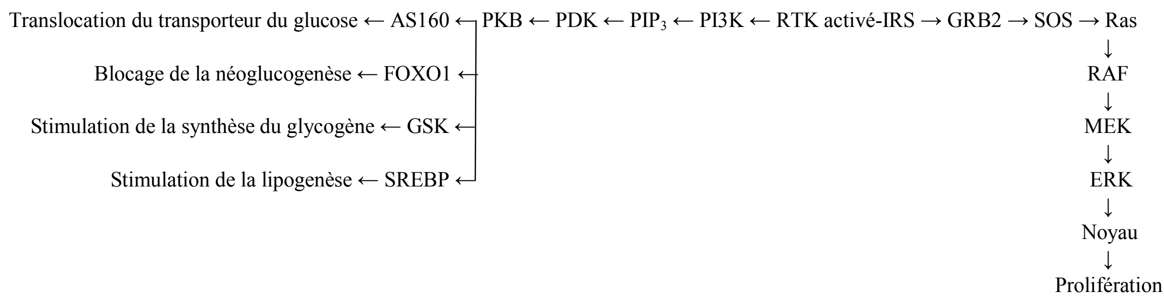
● **Application au récepteur de l'insuline**

Le récepteur de l'insuline est formé de deux sous-unités α extracellulaires et de deux sous-unités β intracellulaires responsables de la transduction du signal.

La fixation de l'insuline sur son récepteur entraîne la dimérisation des récepteurs, la transconformation et l'interaction des domaines cytosoliques avec autophosphorylation et stimulation de l'activité tyrosine kinase.

Les protéines cytosoliques les plus importantes qui interagissent avec le récepteur activé sont appelées « IRSs (**I**nsulin **R**eceptor **S**ubstrates) », qui possèdent un domaine PTB.

L'interaction IRS-récepteur activé entraîne la phosphorylation des IRSs. Cette phosphorylation va constituer des messages et le recrutement d'autres protéines cytosoliques spécifiques.



Effet métabolique de l'insuline :

- **translocation des GLUT4 :** AS160 (**A**KT **S**ubstrate **160** kDa) est localisée dans la membrane des vésicules intracellulaires contenant les GLUT4, c'est un inhibiteur de la translocation. La phosphorylation de AS160 par AKT lève l'inhibition, ce qui permet la translocation des transporteurs vers la membrane ;
- **synthèse du glycogène :** AKT va phosphoryler la GSK (**G**lycogen **S**ynthase **K**inase), ce qui entraîne l'activation de la GSK et donc l'activation de la glycogène synthase. AKT lève l'inhibition de la GSK, qui lève l'inhibition de la glycogène synthase ;
- **inhibition de la néoglucogenèse :** les deux enzymes les plus importantes de la néoglucogenèse sont la PEPCK (**P**hospho**é**nol**p**yruvate **c**arboxy**k**inase) et la G6Pase (**G**lucose-**6**-**p**hosphatase). La transcription de leurs deux gènes est régulée par le facteur de transcription FOXO1 (**Fo**rkhead Bo**x** **O1**), qui est dans le noyau et qui est actif lorsqu'il est déphosphorylé. La phosphorylation de FOXO1 par AKT fait migrer ce dernier dans le cytosol, il n'y a plus de transcription des enzymes et il y a arrêt de la néoglucogenèse ;
- **lipogenèse :** l'actéyl-CoA est le précurseur des acides gras. Deux enzymes permettent la synthèse des acides gras : l'ACCase (**A**cétyl-**C**o**A** **c**arboxylase) et l'acide gras synthase. La transcription de ces deux enzymes est stimulée par un facteur de transcritption : le SREBP (**S**terol **R**egulatory **E**lement-**B**inding **P**rotein). L'action de mTOR sur ce facteur de transcription (phosphorylation) permet à ce facteur de migrer dans le noyau et d'activer la transcription des enzymes.

ii. Récepteurs à activité sérine/thréonine kinase (RSTKs)

La majorité de ces récepteurs appartiennent à la famille des TGFs (**T**ransforming ou **T**umor **G**rowth **F**actors). Les TGFs exercent des effets inhibiteurs puissants sur la prolifération de nombreux types cellulaires.

iii. Récepteurs couplés à une activité kinase cytosolique ou voie JAK-STAT (Janus Kinase-Signal Transducer and Activator of Transcription)

Les récepteurs qui utilisent cette voie sont les récepteurs des cytokines, de la prolactine, de la GH et de l'érythropoïétine.

Ces récepteurs contrôlent de nombreux processus impliqués dans la croissance et la différenciation de populations cellulaires spécifiques à un moment donné :

- durant la grossesse, la prolactine induit la différenciation de cellules épithéliales bordant les canalicules immatures de la glande mammaire en cellules acineuses qui produisent les protéines du lait et les sécrètent ;

- l'érythropoïétine déclenche la production d'érythrocytes en induisant la prolifération et la différenciation de progéniteurs érythroïdes dans la moelle osseuse. Elle est synthétisée par les néphrocytes qui surveillent la concentration d'O_2 dans le sang. Une baisse de la concentration d'O_2 signifie que le nombre d'érythrocytes a diminué, les néphrocytes répondent à cette baisse d'O_2 par l'intermédiaire d'un facteur sensible à la concentration d'O_2 qu'on appelle « HIF-1 (**H**ypoxia-**I**nducible **F**actor **1**) ». Ce facteur va stimuler la synthèse de l'érythropoïétine et sa libération dans la circulation. Elle se fixe sur les récepteurs des progéniteurs érythroïdes, ceux-ci échappent à l'apoptose, ce qui leur permet de donner des érythrocytes matures, ce qui a pour conséquence une augmentation du nombre d'érythrocytes, donc une augmentation de la concentration d'O_2.